

FASCICULE DE BREVET D'INVENTION

<div>21</div> <div>Numéro de dépôt : 1201400198</div> <div>22</div> <div>Date de dépôt : 08/05/2014</div> <div>30</div> <div>Priorité(s) :</div>	<div>73</div> <div>Titulaire(s) :</div> <div>Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD), 42, rue Scheffer, 75116 PARIS (FR); AGROPOL, 11-13 Rue de Maonceau, 75008 PARIS (FR); Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement (2iE), Rue de la Science, 01 B.P. 594, OUAGADOUGOU (BF) Institut International d'Ingénierie de l'eau et de l'Environnement (2iE) Rue de la Science, 01 B.P. 594 OUAGADOUGOU, (BF)</div> <div>72</div> <div>Inventeur(s) :</div> <div>M. Joël BLIN (BF) M. Pierre VILLENEUVE (FR) Bruno BAREA (FR) Wilfried Rédéo Moussavou (BF)</div> <div>74</div> <div>Mandataire :</div> <div>Cabinet d'Avocats Henri JOB, 1059, Boulevard de la République, Immeuble Stamatiadès, B.P. 5482, DOUALA (CM).</div>
<div>24</div> <div>Délivré le : 31/12/2014</div> <div>45</div> <div>Publié le : 04.01.2016</div>	

<div>54</div> <div>Titre : Procédé écologique de production d'esters éthanoliques par transestérification éthanolique en catalyse enzymatique.</div>	
<div>57</div> <div>Abrégé :</div> <div> <div>Procédé de production d'esters éthanoliques par transestérification de triglycérides d'une huile végétale ou d'une graisse animale par l'éthanol, selon la réaction : triglycérides + éthanol (flèche horizontale à insérer) esters éthanoliques + glycérol cette réaction étant catalysée par une enzyme végétale, ce procédé comprenant : - l'introduction progressive de l'éthanol dans le milieu réactionnel; - l'introduction de silice dans le milieu réactif pour réaliser l'absorption d'au moins une partie du glycérol produit.</div> </div>	

Procédé écologique de production d'esters éthanoliques par transestérification éthanolique en catalyse enzymatique

L'invention a trait à la production d'esters éthanoliques (destinés en particulier à une utilisation comme biodiesel) par transestérification alcoolique des triglycérides d'une huile végétale ou d'une graisse animale, selon un procédé écologique.

Les esters éthanoliques produits à partir d'huile végétale ou de graisse animale font l'objet de nombreuses recherches car, utilisés comme biodiesels, ils se substituent avantageusement aux carburants fossiles en étant à la fois renouvelables et moins polluants.

Cette substitution est d'autant plus avantageuse qu'elle ne nécessite aucune adaptation particulière des moteurs diesel.

Rappelons que la transestérification s'opère selon une réaction au cours de laquelle les triglycérides contenus dans l'huile ou la graisse réagissent avec un alcool pour former des esters alcooliques – en tant que produit principal de la réaction – et du glycérol – en tant que sous-produit de la réaction.

On simplifie la réaction en l'écrivant de la manière suivante :

Triglycérides + alcool \rightarrow ester alcoolique + glycérol

Afin d'accélérer cette réaction, naturellement lente, et d'en accroître le rendement, naturellement faible, il est courant d'ajouter un catalyseur au milieu réactif.

Mais le passage de la production du laboratoire à l'échelle industrielle demeure problématique. Des arbitrages doivent être effectués quant aux critères suivants :

- le choix de l'huile ou de la graisse,
- le choix de l'alcool,
- le choix du catalyseur,
- le mode opératoire.

Le choix de l'huile ou de la graisse n'est pas évident. De nombreux oléagineux, en grain ou en fruit, peuvent servir de base à la préparation d'esters. Citons à titre d'exemple le soja, le tournesol, le mahua (ou madhuca), le babassu, le jatropha, le pépin de raisin. Ces exemples sont listés dans L. Fjerbaek, *A Review of the Current State of Biodiesel Production Using Enzymatic Transesterification*, Wiley InterScience, 8 Jan. 2009. On peut également utiliser des mélanges ou encore des

résidus d'huile végétale de cuisson. De nombreuses contraintes de nature économique, éthique et industrielles pèsent sur le choix de l'huile. Il est économiquement et éthiquement raisonnable d'utiliser les oléagineux produits sur place, lorsque ceux-ci ne sont pas prélevés sur les stocks destinés à l'alimentation, l'idéal étant que ces oléagineux soient cultivés sur des sols ne convenant pas à la culture céréalière ou maraîchère. Parmi ces oléagineux, le jatropha curcas se révèle une plante intéressante, car combinant une bonne résistance à la sécheresse et une haute teneur en triglycérides (présents dans ses graines).

Le choix de l'alcool est plus simple et se fait généralement entre le méthanol et l'éthanol. Le méthanol est très répandu en raison de son coût de production, relativement modique. Cependant le méthanol, issu de l'industrie pétrochimique, présente une empreinte carbone défavorable, associée à des propriétés neurotoxiques, qui le rendent inadapté aux procédés écologiques de production d'esters. L'éthanol, en revanche, peut être aisément extrait de la biomasse, typiquement dans l'industrie sucrière, sans poser de problème environnemental ou sanitaire majeur. Cependant il est peu utilisé en raison de sa faible réactivité dans les réactions de transestérification des triglycérides en comparaison du méthanol, et en raison de son caractère hydrophile : l'éthanol courant est généralement chargé en eau (jusqu'à 5% en volume). Or la présence d'eau dans l'éthanol tend à désactiver au moins partiellement le catalyseur et favorise l'avènement de réactions secondaires contreproductives (typiquement l'hydrolyse des esters). Il est envisageable de déshydrater l'éthanol mais cette opération est coûteuse et consomme une partie importante de l'énergie contenue dans l'éthanol lui-même.

Le choix du catalyseur est délicat. Il existe deux types de catalyse : la catalyse chimique (acide ou basique, homogène ou hétérogène) ; la catalyse enzymatique.

La catalyse basique homogène consiste à utiliser un catalyseur dissous directement dans le milieu réactionnel. Basée sur des catalyseurs tels que l'hydroxyde de sodium (NaOH), l'hydroxyde de potassium (KOH) ou encore l'éthanoate de sodium (EtO^-Na^+), cette catalyse est la plus courante car la plus simple à conduire. Outre son

aspect environnemental défavorable qui la disqualifie pour une production écologique, notons les inconvénients suivants :

- apparition de réactions secondaires d'hydrolyse et de saponification ayant pour conséquence d'abaisser le rendement, 5
sauf à employer l'éthanol sous forme anhydre, associé à une huile végétale purifiée ayant une faible teneur en acides gras (favorables aux réactions de saponification),
- nécessité, dans certains cas, de conduire la réaction à une température élevée, supérieure à 60°C pour éviter la formation 10
d'émulsions défavorables à la séparation des esters alcooliques et du glycérol,
- la nécessité de purifier le produit de réaction pour en extraire le catalyseur encore présent.

La catalyse hétérogène (acide ou basique), moins courante, 15
consiste à immobiliser le catalyseur sur une surface fixe. Ce procédé ne nécessite pas de neutralisation du catalyseur à la fin de la réaction, ce dernier pouvant être récupéré par filtration. La catalyse hétérogène se révèle moins polluante que la catalyse homogène. Néanmoins, elle est moins efficace en raison de la moindre disponibilité des sites réactifs et 20
exige des températures élevées, supérieures à 150°C, et des pressions également élevées (jusqu'à 25 bars), au détriment de l'efficacité énergétique de la production.

La catalyse enzymatique constitue une alternative de plus en plus étudiée à la catalyse chimique. Les lipases, également dénommées 25
triacylglycérol hydrolases (aussi connus sous le numéro de code EC 3.1.1.3, attribué par la Commission des enzymes), sont des enzymes assurant la métabolisation des lipides chez les êtres vivants, végétaux ou animaux. L'avantage des lipases est leur efficacité à température et pression douces (température ambiante ou ne dépassant pas 45°C, 30
pression atmosphérique). Les réactions secondaires de saponification sont évitées, car, comme le relève Fjerbaek (op.cit.), les lipases (tout du moins les lipases microbiennes) réalisent l'estérification conjointe des triglycérides et des acides gras libres.

La catalyse enzymatique souffre cependant de contraintes liées à 35
la difficulté à passer de l'échelle du laboratoire à l'échelle industrielle.

Premièrement, le glycérol, sous-produit de la réaction de transestérification, peut avoir un effet inhibiteur sur l'activité catalytique

des lipases. Deuxièmement, la préparation des lipases est relativement fastidieuse, son coût limitant l'avantage économique qu'il y aurait à recourir à ces enzymes. La littérature a étudié les effets tant des lipases microbiennes que végétales, avec une prédominance des premières, disponibles sous forme commerciale, cf. Fjerbaek (op.cit.).

Malgré la complexité et le coût élevé de leur production, les lipases microbiennes sont fréquemment employées en raison de leur bonne efficacité catalytique. Le recours aux enzymes végétales est plus rare (bien que celles-ci répondent aux impératifs biologiques), en raison de leur efficacité apparente moindre que celle des lipases microbiennes.

L'utilisation des enzymes végétales pour la production d'esters par transestérification éthanolique d'huile végétale a cependant été étudiée, cf. G. Nahak, *Comparative study of enzymatic transestérification of Jatropha oil using lipase from Jatropha curcas and Jatropha gossipyfolia*, Continental J. Biological Sciences, 2010.

Cette publication souffre néanmoins d'un défaut de clarté quant aux résultats obtenus, et fournit peu de détails, notamment sur le protocole d'analyse des esters obtenus, dont on peut raisonnablement douter de la qualité.

Un premier objectif de l'invention est de proposer un procédé écologique de production d'esters par transestérification alcoolique des triglycérides d'une huile végétale ou d'une graisse animale.

Un deuxième objectif de l'invention est de proposer un procédé de production d'esters qui, tout en demeurant écologique, présente un bon rendement.

Un troisième objectif de l'invention est de proposer un procédé de production d'esters qui, tout en ayant un bon rendement, puisse être conduit dans des conditions douces de température et de pression.

Un quatrième objectif de l'invention est de proposer un procédé de production d'esters qui, ayant un bon rendement dans des conditions douces de température et de pression, puisse être transposé à l'échelle industrielle.

A cet effet, il est proposé un procédé de production d'esters éthanoliques par transestérification de triglycérides d'une huile végétale ou d'une graisse animale par l'éthanol, selon la réaction :



cette réaction étant catalysée par une enzyme végétale,
procédé dans lequel :

- l'éthanol est introduit de manière progressive dans le milieu réactif ;
- 5 - de la silice est introduite dans le milieu réactif pour réaliser l'adsorption d'au moins une partie du glycérol produit.

Diverses caractéristiques de ce procédé peuvent être prévues, seules ou en combinaison :

- l'introduction de l'éthanol est réalisée en au moins deux étapes successives consistant chacune à introduire une fraction de la proportion stœchiométrique d'éthanol nécessaire à la consommation totale de l'huile.
- 10 - l'enzyme est issue de graines germées de *Jatropha Curcas* ;
- le catalyseur introduit dans le milieu réactif se présente sous forme d'une poudre de graines germées de *Jatropha Curcas* délipidées ;
- 15 - la réaction est conduite à une température comprise entre 35°C et 40°C ;
- la réaction est conduite à pression atmosphérique ;
- 20 - l'éthanol est introduit dans le milieu réactionnel selon un ratio molaire à l'huile ou à la graisse compris entre 1:0,3 et 1:0,9 ;
- le catalyseur est introduit dans le milieu réactionnel selon un ratio massique catalyseur / huile ou graisse compris entre 10% et 20% ;
- l'éthanol est partiellement hydraté ;
- 25 - l'éthanol présente un taux hydrique de 5% environ.

D'autres objets et avantages de l'invention apparaîtront à la lumière de la description de modes de réalisation d'un procédé de production d'esters éthanoliques notamment destinés à une utilisation comme biocarburant (couramment appelé biodiesel, en raison de sa substitution – ou de son mélange – possible au diesel courant issu de l'industrie pétrochimique) par transestérification des triglycérides d'une huile végétale ou d'une graisse animale pour fabriquer un biocarburant. On notera que les esters éthanoliques peuvent également avoir des applications, notamment en cosmétique, où ils peuvent jouer un rôle d'intermédiaire chimique.

35

Rappelons que les triglycérides, qui sont les constituants principaux des huiles végétales et des graisses animales, et qui sont également dénommés triacylglycérols ou encore triacylglycérides, sont des lipides appartenant à la famille des glycérides (formés par association d'esters d'acide gras et de glycérol). Dans un triglycéride, trois groupements hydroxyle $-OH$ du glycérol $HOH_2C-CHOH-CH_2OH$ sont liés par estérification à trois acides gras. La formule chimique d'une molécule de triglycéride est généralement caractérisée de la manière suivante :



où R_1 , R_2 et R_3 sont des acides gras.

La réaction de transestérification d'un triglycéride est activée par un alcool $R-OH$. Les acides gras de sa molécule réagissent chacun avec une molécule d'alcool pour donner respectivement, d'une part, trois mono esters alcooliques (produits principaux de la réaction) et, d'autre part, du glycérol (sous-produit de la réaction, destiné à être séparé des esters), selon la réaction :



L'alcool est l'éthanol CH_3-CH_2-OH , qui a pour avantages d'être non toxique, d'avoir un faible impact quant à l'effet de serre, et de pouvoir être produit par distillation du produit issu de la fermentation aérobie de toute biomasse sucrée ou amidonnée, par nature renouvelable.

La réaction de transestérification des triglycérides par l'éthanol produit des esters éthanoliques et du glycérol, selon la réaction suivante :



Pour les raisons exposées en introduction, on conduit cette réaction en présence d'un catalyseur enzymatique, et plus précisément une enzyme végétale, et notamment une lipase, au sens de la classification du vivant à six règnes de Cavalier-Smith, telle que
 5 publiée dans T. Cavalier-Smith, *A revised six-kingdom system of life*, Biological Reviews, Cambridge Philosophical Society, Vol.73, No.3, Août 1998, p.203–266, et reprise dans T. Cavalier-Smith, *Only six kingdoms of life*, Proc. R. Soc. Lond. B, Vol.271, No.1545, Juin 22, 2004, p.1251–1262.

10 Des essais ont démontré que la fonction de catalyse est particulièrement efficace lorsque l'enzyme (la lipase) est extraite de graines germées de *Jatropha*, et notamment de la variété *Jatropha Curcas*.

15 La germination des graines de *Jatropha Curcas* peut être conduite de manière classique. Un protocole typique de germination peut comprendre les opérations suivantes :

- hydrater les graines brutes (obtenues après concassage, en veillant à rompre les coques des fruits sans endommager les graines qu'elles recèlent) en les plongeant dans un bain d'eau,
- 20 – après hydratation des graines, les placer dans un milieu humide à température régulée (par exemple à 20°C environ),
- après apparition du germe (c'est-à-dire lorsque la radicule a percé la cuticule de la graine), maintenir les graines germées dans le milieu humide pendant une durée prédéterminée avantageusement
 25 comprise entre 72 et 96 heures pour obtenir un germe de taille raisonnable (de l'ordre de 1 cm ou plus) et favoriser l'activité enzymatique.

Il a en effet été démontré que l'activité enzymatique des graines de *Jatropha curcas* est optimale environ 96 heures après germination, cf.
 30 R. Staubmann, *Esterase and lipase activity in Jatropha curcas L. Seeds*, Journal of Biotechnology 75 (1999) 117–126.

Les graines germées de *Jatropha Curcas* subissent, préalablement à leur utilisation comme catalyseur dans la réaction de transestérification, un conditionnement comprenant :

- 35 – une première opération de broyage des graines germées (par exemple au moyen d'un moulin ou d'un broyeur à cylindres) pour

obtenir une poudre végétale fine (à grains de taille inférieure à 0,5 mm environ),

- une deuxième opération de dessiccation de la poudre végétale ainsi obtenue, conduite de préférence à une température douce (inférieure ou égale à 40°C, typiquement d'environ 35°C),
- une troisième opération de délipidation de la poudre végétale ainsi desséchée. Cette délipidation est de préférence réalisée par voie chimique. Selon un mode de réalisation, la délipidation est conduite par mélange d'hexane à la poudre végétale, puis par centrifugation du mélange, et enfin par filtration et séchage du résidu de centrifugation, qui se présente sous forme d'une poudre végétale délipidée.

Pour des raisons de simplicité, on utilise doublement le terme « catalyseur » : d'un point de vue fonctionnel, pour désigner l'enzyme en tant que catalyseur de la réaction de transestérification et, d'un point de vue structurel, la poudre végétale délipidée selon le processus décrit ci-dessus.

Des essais de réaction de transestérification d'une huile végétale ont été conduits en employant le catalyseur ainsi produit, en faisant varier les paramètres suivants pour en déterminer les valeurs optimales :

- le ratio molaire huile végétale (ou graisse animale) / éthanol, noté HV:EtOH
- la teneur hydrique (en volume) de l'éthanol, notée H₂O%
- la charge catalytique – c'est-à-dire le ratio massique catalyseur / huile végétale (ou graisse animale), notée Cat%.

Les essais ont démontré que la teneur hydrique H₂O% de l'éthanol a peu d'influence sur le rendement de la réaction.

Ce constat est positif, car, compte tenu des difficultés rencontrées pour déshydrater l'éthanol (particulièrement hydrophile), la production d'esters éthanoliques à l'échelle industrielle avec un éthanol déshydraté (c'est-à-dire avec une teneur hydrique inférieure ou égale à 0,5%), a ainsi pu être écartée d'emblée au profit d'une production mettant en œuvre un éthanol partiellement hydraté de qualité commerciale, dans lequel la teneur hydrique est de 5% environ.

S'agissant des paramètres HV:EtOH et Cat%, les essais ont permis d'en déterminer des gammes de valeurs, en dehors desquelles, quels

que soient les autres paramètres (notamment température, pression, mode opératoire), la réaction de transestérification ne peut être conduite de manière satisfaisante en raison de rendements (c'est-à-dire de taux de conversion des triglycérides en esters éthanoliques) trop faibles.

Ces gammes sont les suivantes :

	Min	Max
HV:EtOH	1:0,3	1:0,9
Cat%	10%	20%

Il a en particulier été constaté que le rendement de la réaction de transestérification varie inversement au ratio molaire HV:EtOH lorsque l'éthanol est introduit dans le milieu réactif en une seule fois. En particulier, lorsque l'éthanol est introduit en une seule fois avec un ratio molaire HV:EtOH supérieur ou égal à 1:0,6, le rendement de la réaction de transestérification s'avère très faible (en pratique inférieur à 20%).

En revanche, on constate une augmentation du rendement de la réaction de transestérification avec la charge catalytique Cat%. Il apparaît cependant préférable de modérer la charge catalytique, en raison des coûts économiques et énergétiques de la fabrication du catalyseur. Une charge trop élevée nuirait au rendement global (incluant les coûts énergétique de production des matières premières).

On présente dans ce qui suit plusieurs exemples de procédé de production d'esters éthanoliques par transestérification des triglycérides d'une huile végétale (qui contient également des monoglycérides et des diglycérides). Dans tous ces exemples, l'huile est une huile de tournesol, mais il pourrait s'agir d'une autre huile végétale (notamment de soja, de Jatropha, de pépin de raisin, d'un mélange de diverses huiles végétales), ou encore d'une graisse animale. L'alcool employé est un éthanol de qualité commerciale, dont la teneur hydrique est de 5% environ. Ces exemples, conduits à titre expérimental sur de faibles quantités de réactifs, visent à déterminer les meilleures conditions opératoires et les meilleurs choix pour les paramètres réactionnels.

Exemple 1

Dans ce premier exemple, on met en présence, dans un flacon d'une contenance de 25 ml, 4g d'huile de tournesol et 690 µl d'éthanol hydraté (à 5%), soit un ratio molaire HV:EtOH de 1:3,6. L'éthanol est ajouté par fractions successives de 80 µl, à intervalles prédéterminés (par exemple toutes les 6 heures) – soit douze fractions. La réaction est conduite en présence d'une masse de catalyseur de 0,4 g (soit une charge catalytique de 10%), dans une étuve maintenue à une température comprise entre 35°C et 40°C (en l'espèce à 37,5°C), à pression atmosphérique, sous agitation orbitale, pendant une durée de 72h. Le catalyseur est ajouté directement au milieu réactionnel, sans solvant.

Le rendement de la réaction est mesuré par chromatographie. Plus précisément, après 72h de réaction, un échantillon de 44µl est prélevé dans le mélange réactionnel et subit un traitement thermique (par exemple à l'étuve ou au bain marie à une température supérieure ou égale à 90°C de sorte à inactiver les enzymes végétales. Après ce traitement thermique, l'échantillon est refroidi à température ambiante, puis lui est ajoutée une quantité de n-hexane de quelques ml (typiquement 4 ml). 100 µl de cette solution sont diluées dans quelques ml (en l'espèce 10 ml) de n-hexane. De ce mélange, un échantillon de 10µl est prélevé puis analysé par chromatographie, éventuellement couplée à une mesure densitométrique, pour y mesurer la quantité d'esters éthyliques en présence, puis calculer la quantité d'esters éthyliques dans le milieu réactionnel, rapportée ensuite à la quantité d'éthanol introduite pour en déduire le rendement R, selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{n \text{ EEHV}}{(3 * n \text{ TAG} + 2 * n \text{ DAG} + n \text{ MAG})} * 100$$

Où :

nEEHV est le nombre de mole d'esters éthyliques d'huile végétales mesurés,

nTAG le nombre de mole de triglycérides initialement présents dans l'huile,

nDAG celui des diglycérides initialement présents dans l'huile,

nMAG le nombre de mole de monoglycérides initialement présents dans l'huile.

En l'espèce, le rendement ainsi mesuré est de 18,23%.

Exemple 2

Cet exemple ne diffère de l'exemple 1 que par la charge catalytique, de 20% (soit une masse de catalyseur de 0,8 g).

Le rendement mesuré par le protocole de l'exemple 1 est alors de
5 29,43%.

Exemple 3

Cet exemple ne diffère de l'exemple 1 que par l'ajout initial de silice dans le milieu réactionnel. On note Sil% la charge de silice, c'est-à-dire le ratio massique silice / huile végétale. En l'espèce, on ajoute
10 dans le milieu réactionnel une masse de silice de 0,8 g, soit une charge de silice de 20%.

Le rendement mesuré par le protocole de l'exemple 1 est de 51,56%.

Exemple 4

15 Dans cet exemple, le milieu réactionnel de l'exemple 2 est réutilisé. Ce milieu réactionnel subit, après l'écoulement des 72 heures de réaction, un filtrage grossier de sorte à éliminer les particules de catalyseur en suspension. Au milieu ainsi filtré sont ajoutés :

- une charge catalytique Cat% de 20% (soit en l'espèce 0,8 g),
- 20 - une charge de silice Sil% de 20% (soit en l'espèce 0,8 g de silice).

La réaction est alors relancée dans le nouveau milieu réactionnel ainsi rechargé, sans nouvel ajout d'éthanol. Après une durée supplémentaire de réaction de 24 heures, le protocole de l'exemple 1 est répété pour effectuer la mesure du rendement. Celui-ci se révèle
25 être de 79,65%.

Exemple 5

Dans cet exemple, au milieu réactionnel rechargé de l'exemple 4 est, après la durée supplémentaire de réaction de 24 heures, effectué un nouvel ajout d'éthanol selon un ratio molaire HV:EtOH de 1:0,3 (soit,
30 en l'espèce, un volume de 80 µl). La réaction est alors relancée pour une durée de 6 heures, à l'issue de laquelle le rendement est mesuré par le protocole décrit dans l'exemple 1. Ce rendement se révèle être de 85,09%.

Dans cet exemple, l'éthanol a ainsi été ajouté de manière
35 progressive en deux étapes successives consistant chacune à introduire une fraction de la proportion stœchiométrique d'éthanol nécessaire à la consommation totale de l'huile. Plus précisément,

chaque étape d'ajout d'éthanol consiste en l'espèce à ajouter de l'éthanol selon un ratio molaire HV:EtOH de 1:0,3, soit un ratio total de 1:0,6.

Exemple 6

5 Dans cet exemple, au milieu réactionnel issu de la nouvelle réaction de 6 heures de l'exemple 6 est effectué un deuxième ajout d'éthanol selon un ratio molaire HV:EtOH de 1:0,3, soit un volume de 80 µl. La réaction est alors relancée pour une durée de 6 heures, à l'issue de laquelle le rendement est mesuré par le protocole décrit dans
10 l'exemple 1. Ce rendement se révèle être de 95,56%.

Dans cet exemple, l'éthanol a ainsi été ajouté de manière progressive en trois étapes successives consistant chacune à introduire une fraction de la proportion stœchiométrique d'éthanol nécessaire à la consommation totale de l'huile. Plus précisément, chaque étape d'ajout
15 d'éthanol consiste en l'espèce à ajouter de l'éthanol selon un ratio molaire HV:EtOH de 1:0,3, soit un ratio total de 1:0,9.

Les exemples présentés ci-dessus mettent en évidence l'intérêt de combiner une introduction progressive de l'éthanol dans le milieu réactionnel à une charge de silice en présence d'une enzyme végétale à titre de catalyseur, conformément aux exemples 5 et 6.
20

Les procédés des exemples 1 à 4, fournis à titre comparatif, ne sont pas retenus en raison des faibles rendements procurés.

Les exemples 6 et 7 démontrent une augmentation importante du rendement lorsque l'introduction progressive de l'éthanol est combinée à une charge de silice.
25

Les exemples 5 et 6 comparés entre eux montrent que le rendement croît lorsque, en présence d'une charge de silice, le ratio molaire HV:EtOH final atteint 1:4,5 par ajout progressif lent de l'éthanol.

30 Le procédé de production d'esters éthanoliques conforme aux exemples 5 ou 6 ci-dessus procure les avantages suivants.

Premièrement, il est possible d'utiliser un éthanol hydraté jusqu'à 5% sans conséquence notable sur le rendement. En outre, le ratio alcool/huile est plus faible que dans la majorité des réactions de transestérification connues, ce qui réduit l'impact environnemental.
35

Deuxièmement, les réactions secondaires de saponification des acides gras libres sont évitées. En fait, on constate une estérification

au moins partielle des acides gras libres en esters éthyliques, tout du moins lorsque la teneur volumique initiale de ces acides gras libres dans le milieu réactionnel est inférieure à 20%. De manière corollaire, il est ainsi possible d'employer une huile végétale (ou une graisse animale), ce qui réduit sensiblement l'impact environnemental et permet d'élargir la gamme de matières premières employées pour conduire la réaction de transestérification.

Troisièmement, le catalyseur fabriqué à partir de graines germées de *Jatropha Curcas* se révèle particulièrement efficace, au point qu'il n'est pas nécessaire de l'associer à un solvant dans le milieu réactionnel. En d'autres termes, le catalyseur est employé à l'état brut, au bénéfice du caractère écologique du procédé. De plus, ce catalyseur est particulièrement stable et peut être recyclé, ce qui est également avantageux en termes d'économies d'énergie et d'impact environnemental.

Quatrièmement, la silice, qui remplit une fonction d'adsorption du glycérol produit en cours de réaction, permet de diminuer (voire de supprimer) l'effet inhibiteur du glycérol sur l'activité catalytique de l'enzyme (la lipase) végétale.

Cinquièmement, les esters peuvent être extraits du milieu réactionnel sans séparation de phase, grâce au piégeage du glycérol dans la silice. En conséquence, la purification du produit obtenu peut être effectuée par simple filtration du milieu réactionnel pour en extraire la silice chargée en glycérol. Il en résulte une réduction du nombre d'étapes du procédé, depuis l'introduction de l'alcool jusqu'à l'extraction des esters. Incidemment, le glycérol piégé s'avère particulièrement pur (en comparaison du glycérol obtenu par des processus de catalyse chimique, qui nécessite un post-traitement) et peut être directement valorisé comme sous-produit de la réaction.

Sixièmement, la réaction peut être conduite dans des conditions douces de température (inférieure à 45°C) et de pression (atmosphérique), ce qui permet de réaliser des économies d'énergie et réduit sensiblement l'impact environnemental.

On notera que, bien que les protocoles réactionnels proposés résultent de tests conduits à l'échelle expérimentale, aucune difficulté particulière ne s'oppose à leur transposition à l'échelle industrielle.

A cette occasion, l'ajout progressif de l'éthanol dans le milieu réactionnel peut être effectué de manière fractionnée, c'est-à-dire que l'éthanol est introduit en plusieurs ajouts ponctuels successifs, ou de manière continue, c'est-à-dire que l'éthanol est introduit en continu à faible débit dans le milieu réactionnel jusqu'à consommation totale des triglycérides.

Les esters obtenus peuvent être utilisés comme biodiésels, mais également en tant qu'intermédiaires chimiques, notamment dans le domaine de la préparation des produits cosmétiques.

On notera que, bien que le procédé de production d'esters éthanoliques décrit ci-dessus permette d'obtenir de bons résultats avec une enzyme végétale extraite de la graine germée de *Jatropha Curcas*, il est envisageable d'employer d'autres sources enzymatiques végétales, notamment les plantes oléagineuses ou les graines (éventuellement germées) oléagineuses, telles que :

- tous types de *Jatropha* (notamment *Jatropha mahafaliensis* et *Jatropha gossypifolia*) et plus généralement les autres membres de la famille des Euphorbiaceae ;
- Karité (notamment *Vitellaria paradoxa*) et plus généralement tous les membres de la famille des Sapotaceae ;
- Moringa (typiquement *Moringa oleifera*, *Moringa stenopetala*), et plus généralement les autres membres de la famille des Moringaceae,
- Baobab (notamment *Adansonia*), et plus généralement les autres membres de la famille des Bombacaceae ;
- Figue / Figuier de barbarie (*Opuntia ficus-indica*), et plus généralement les autres membres de la famille des Cactaceae ;
- Marula ou Sakoa (*Sclerocarya birrea*), et plus généralement les autres membres de la famille des Anacardiaceae ;
- Margousier (*Azadirachta indica*), et plus généralement les autres membres de la famille des Meliaceae ;
- Dattier (*Balanites aegyptiaca*), et plus généralement les autres membres de la famille des Zygophyllaceae.

REVENDEICATIONS

1. Procédé de production d'esters éthanoliques par transestérification de triglycérides d'une huile végétale ou d'une graisse animale par l'éthanol, selon la réaction :



cette réaction étant catalysée par une enzyme végétale,

ce procédé étant caractérisé par :

- l'introduction progressive de l'éthanol dans le milieu réactionnel ;
- l'introduction de silice dans le milieu réactif pour réaliser l'adsorption d'au moins une partie du glycérol produit.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'introduction de l'éthanol est réalisée en au moins deux étapes successives consistant chacune à introduire une fraction de la proportion stœchiométrique d'éthanol nécessaire à la consommation totale de l'huile.

3. Procédé selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que l'enzyme est issue d'une plante oléagineuse ou d'une graine oléagineuse.

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que le catalyseur introduit dans le milieu réactif se présente sous forme d'une poudre de graines germées de Jatropha Curcas.

5. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la réaction est conduite à une température comprise entre 35°C et 40°C.

6. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que la réaction est conduite à pression atmosphérique.

7. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'éthanol est introduit dans le milieu réactionnel selon un ratio molaire à l'huile ou à la graisse compris entre 1:0,3 et 1:0,9.

8. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que le catalyseur est introduit dans le milieu réactionnel selon un ratio massique catalyseur / huile ou graisse compris entre 10% et 20%.

9. Procédé selon l'une des revendications précédentes, caractérisé en ce que l'éthanol est partiellement hydraté.

10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que l'éthanol présente un taux hydrique de 5% environ.